

АНТИПИРЕТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ L-ВАЛИНА У КРЫС И КРОЛИКОВ В УСЛОВИЯХ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКИ

А.Ф. Висмонт, Ф.И. Висмонт

Белорусский государственный медицинский университет

В последнее время в нашей стране и за рубежом наблюдается повышение интереса к физиологии и биохимии, фармакологии и вопросам клинического применения аминокислот и их производных. Однако по проблеме влияния аминокислот на температуру тела, в частности, на терморегуляцию при лихорадке, имеются лишь единичные разрозненные данные [1, 2, 3].

Ранее нами было показано, что как центральное так и системное введение в организм аминокислоты L-аргинина оказывает выраженный антипиретический эффект [2, 3] и что повышение функциональной активности L-аргиназы печени имеет важное значение в патогенезе эндотоксिनновой лихорадки [4, 5]. В то же время, значимость аминокислоты L-валина крови в процессах теплообмена при лихорадочных состояниях не изучалась, хотя его участие в этих процессах вполне закономерно, учитывая, что L-валин является ингибитором L-аргиназы печени [8, 11], активность которой будет сказываться на активности L-аргинин-NO-системы, системы имеющей важное значение в регуляции физиологических и патологических процессов [7, 9], в механизмах терморегуляции и патогенезе лихорадки [3, 9].

Цель исследования: выяснить значимость L-валина в регуляции температуры тела при эндотоксिनновой лихорадке.

Материалы и методы. Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных белых 117 крысах и 9 кроликах самцах. Для создания общепринятой модели эндотоксिनновой лихорадки использовали эндотоксин *E. Coli* (серотип 0111:B4 Sigma, США), который вводили однократно: крысам внутривентрально в дозе 5 и 50 мкг/кг, кроликам в краевую вену уха в дозе 0,5 мкг/кг. Для выяснения значимости аргиназы печени в регуляции температуры тела использовали ингибитор аргиназы N ω -гидроксинор-L-аргинин (nor NOHA) фирмы VACHEM (Германия), а также L-валин (Roth GmbH+Co. KG, Германия). Nor NOHA в дозе 10 мг/кг вводили крысам внутривентрально ежедневно, а L-валин в дозе 100 мг/кг внутривентрально через день, в течение недели, а кроликам — однократно, внутривентрально на высоте эндотоксिनновой лихорадки.

Содержание свободных аминокислот в плазме крови крыс определяли методом обращено-фазной жидкостной хроматографии на аналитической колонке Zorbax Eclipse XDB-C8 [6]. Активность аргиназы печени определяли спектрофотометрически [10]. У крыс и кроликов ректальную температуру (в прямой кишке на глубине 3 и 5 см соответственно) измеряли с помощью электротермометра ТПЭМ-1. В ряде опытов регистрацию глубокой температуры тела у бодрствующих крыс осуществляли при помощи телеметрической установки Mini Mitter (модель 4000, США). Все полученные цифровые данные обработаны общепринятыми методами вариационной биологической статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

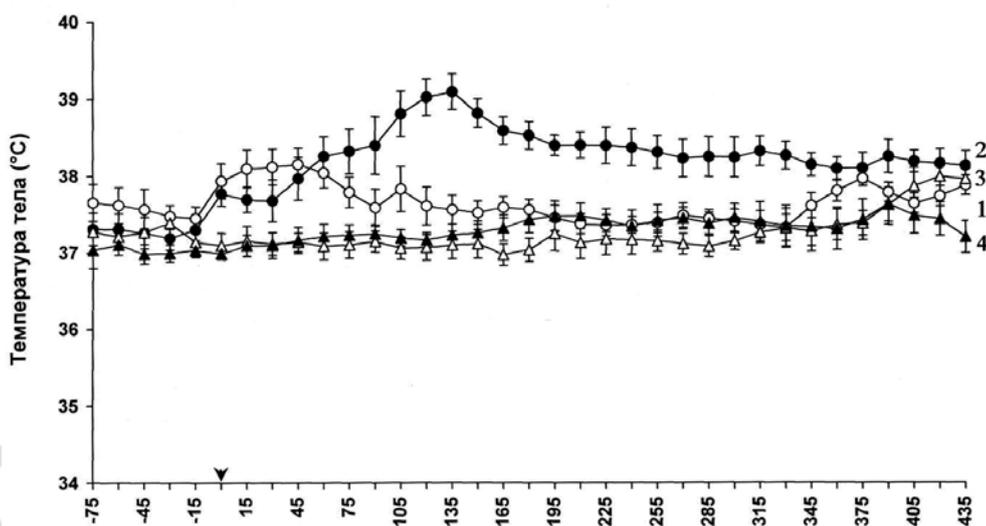
Результаты и их обсуждение. В опытах установлено, что внутривентральное введение крысам (n=12) бактериального эндотоксина (ЛПС) в дозе 5 мкг/кг приводит к медленному повышению температуры тела и слабо выраженной гипертермии. Температура тела повышалась на 1,3 °С, 1,2 °С,

1,8 °С, 1,2 °С и 0,7 °С ($p < 0,001$) через 120, 180, 240, 300 и 330 мин. после инъекции эндотоксина и составляла $38,9 \pm 0,11$; $38,8 \pm 0,12$; $39,4 \pm 0,10$; $38,8 \pm 0,13$ и $38,3 \pm 0,12$ °С соответственно. После введения ЛПС в дозе 50 мкг/кг имело место более выраженное и длительное повышение температуры тела (рис.). Введение в кровоток ЛПС (0,5 мкг/кг) кроликам ($n=9$) приводило к быстрому и значительному повышению ректальной температуры. Температура тела у животных через 30, 60, 120 и 180 мин. после введения ЛПС возрастала на 0,6 °С, 1,3 °С, 1,6 °С и 1,2 °С ($p < 0,001$) и составляла соответственно $39,2 \pm 0,12$; $39,9 \pm 0,10$; $40,2 \pm 0,11$ и $39,8 \pm 0,12$ °С. Действие ЛПС (5 мкг/кг) у крыс ($n=8$) через 120, 240 и 330 мин после введения экзопирогена приводило к повышению активности аргиназы в печени на 53,1%, 31,3% и 23,3% ($p < 0,05$) соответственно, по сравнению с контролем. Активность аргиназы в печени у крыс контрольной группы через 120, 240 и 330 мин после внутрибрюшинного введения физраствора составляла $5,63 \pm 0,27$ ($n=8$), $5,26 \pm 0,31$ ($n=7$) и $5,38 \pm 0,29$ ($n=7$) мкмоль мочевины /г сырой ткани•час.

В условиях эндотоксической лихорадки через 120 мин. после инъекции ЛПС (50 мкг/кг), в плазме крови у крыс ($n=7$) снижалось содержание аминокислоты L-валина на 21,1% ($p < 0,05$) и составляло $133,6 \pm 8,12$ мкмоль/л.

В опытах на крысах ($n=8$) установлено, что ежедневное внутрибрюшинное введение пог-НОНА в дозе 10 мг/кг в течение недели, как и L-валина в дозе 100 мг/кг через день в течение недели достоверно не сказывается на ректальной температуре и приводит к снижению активности аргиназы печени на 71,2% ($p < 0,05$) и 83,5% ($p < 0,05$), по сравнению с животными ($n=7$) в контроле (внутрибрюшинное введение физраствора).

Выявлено, что лихорадочная реакция на внутрибрюшинное введение ЛПС у крыс ослабляется предварительным ежедневным внутрибрюшинным введением в течение 7 дней раствора пог-НОНА (10 мг/кг), и полностью устраняется предварительным внутрибрюшинным введением аминокислоты L-валина в дозе 100 мг/кг. Так, температура тела у крыс в контроле (через 7 дней после ежедневного внутрибрюшинного введения 1,0 мл физраствора) под влиянием ЛПС (5 мкг/кг) через 120 и 180 мин от начала инъекции эндотоксина, повышалась на $1,2 \pm 0,14$ °С ($n=10$) и $1,1 \pm 0,11$ °С ($n=10$) соответственно, а в условиях действия пог-НОНА через 2 и 3 ч после введения ЛПС — на $0,4 \pm 0,06$ и $0,3 \pm 0,02$ °С ($n=8$). В условиях действия в организме L-валина, лихорадочная реакция у крыс на ЛПС не развивалась, даже если экзопироген вводили в дозе 50 мкг/кг (рис.).



Стрелка — момент введения ЛПС (50 мкг/кг).
n количество животных в группе.

Рисунок. Изменения ректальной температуры у крыс после внутрибрюшинного введения: 1— физраствора ($n=8$); 2 — ЛПС (50 мкг/кг, $n=6$); 3 — L-валина (100 мг/кг, $n=6$); 4 — ЛПС (50 мкг/кг) в условиях действия L-валина (100 мг/кг, $n=7$)

В опытах на кроликах ($n=7$) показано, что введение в кровотоки L-валина (100 мг/кг) на высоте подъема температуры тела при эндотоксической лихорадке (через 60 мин от момента инъекции ЛПС) приводит к понижению температуры тела и ослаблению лихорадки. Так, через 15 и 30 мин после введения L-валина ректальная температура на высоте лихорадки снижалась по сравнению с контролем на $0,5\pm 0,08$ ($p<0,01$) и $0,7\pm 0,10$ °C ($p<0,01$). Через 60 мин после инъекции L-валина антипиретический эффект препарата уже отсутствовал.

Таким образом, действие бактериального эндотоксина в организме животных приводит к повышению температуры тела, активности L-аргиназы печени и к снижению уровня аминокислоты L-валина в плазме крови. Есть основание полагать, что при эндотоксической лихорадке, на ранних этапах ее развития, сопровождающихся повышением активности L-аргиназы печени, вероятно в результате снижения уровня в крови L-валина — эндогенного ингибитора ее активности [8, 11], имеет место усиленное использование аминокислоты L-аргинина — субстрата L-аргиназы печени в цикле мочевины, что вносит существенный вклад в пул эндогенного аргинина [12], имеющегося в гепатоцитах и в крови, а именно приводит к значительному снижению его уровня, а соответственно активности L-аргинин-НО-системы и к возникновению вазоконстрикции, снижению теплоотдачи. По видимому, депрессия L-аргиназы печени L-валином, сопровождающаяся повышением уровня L-аргинина и активности L-аргинин-НО-системы, нарушает развитие характерной терморегуляторной реакции организма на бактериальный эндотоксин и препятствует развитию лихорадочной реакции.

Выводы.

Полученные данные свидетельствуют о том, что формирование терморегуляторных реакций на действие бактериального эндотоксина у крыс и кроликов зависит от содержания в плазме крови аминокислоты L-валина и активности аргиназы печени. По-видимому, снижение содержания L-валина в крови является важным патогенетическим фактором эндотоксической лихорадки, а повышение его уровня в крови является одним из факторов эндогенного антипиреза. Очевидно, что вмешательство в процессы терморегуляции с помощью аминокислоты L-валина или фармакологических веществ, способных направленно изменять содержание аминокислот в плазме крови, может быть использовано в качестве эффективного средства коррекции процессов теплообмена, эндогенного антипиреза при лихорадочных состояниях и повышения устойчивости организма к действию пирогенных факторов.

ANTIPIRETTIC EFFECT OF L-VALINE IN RATS AND RABBIT IN ENDOTOXINE FEVER CONDITIONS

A.F. Vismont, F.I. Vismont

Decrease of blood serum amino acid L-valine content on bacterial endotoxine *E. coli* (50 µg/kg) effect on an organism in the experiments on rats and rabbits was established. It was demonstrated that fever reaction on bacterial endotoxine in rats was completely eliminated by preliminarily intraperitoneal introduction of amino acid L-valine in a dose 100 mg/kg which have antipyretic effect in rabbit after administration in blood flow on the endotoxine reaction peak.

Литература.

1. Висмонт Ф.И., Степаненко Н.Н. Нейрохимические механизмы антипиретического действия L-аргинина // Весті НАН Беларусі. Сер. хім. навук. 1997. № 2. С. 102–106.
2. Висмонт А.Ф. Об участии L-аргинина в центральных механизмах эндогенного антипиреза при бактериальной эндотоксинемии // Актуальные проблемы современной медицины 2006 : материалы Междунар. науч. конф. студентов и молодых ученых, посвящ. 85-летию БГМУ : в 2 ч. / под ред. С.Л. Кабака, А.С. Леонтьюка. Минск : БГМУ. Ч. 1. 2006. С. 73–75.
3. Висмонт Ф.И., Висмонт А.Ф. Эндотоксинемия и дисрегуляторная патология // Новости медико-биологических наук. 2008. № 1/2. С. 41–46.
4. Висмонт А.Ф., Лобанок Л.М. Об участии мочевины и аргиназы печени в процессах терморегуляции при эндотоксической лихорадке // Весті НАН Беларусі. 2010. № 4. С. 20–24.
5. Висмонт А.Ф., Лобанок Л.М. Роль аргиназы печени в процессах детоксикации и ее участия в механизмах регуляции температуры тела при бактериальной эндотоксинемии // Доклады НАН Беларусі. 2011. Т. 55, № 2. С. 83–87.
6. Дорошенко Е.М. Методические аспекты и трудности анализа свободных (физиологических) аминокислот и родственных соединений в биологических жидкостях и тканях // В сб. тез. Республ. научн. конф. по аналитической химии с между. участием «Аналитика РБ - 2010». Минск, 14–15 мая 2010. Минск, 2010. С.126.
7. Тейлор Б.С., Аларсон Л.Х., Биллиар Т.Р. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции // Биохимия. 1998. Т. 63, № 7. С. 905–923.

8. Carvajal N., Cederbaum S.D. Kinetics of inhibition of rat liver and kidney arginase by proline and branched chain amino acids // *Biochim. Biophys. Acta*. 1986. Vol. 870, N 2. P. 181-184.
9. Gerstberger R. Nitric Oxide and Body Temperature Control // *News Physiol. Sci.* 1999. Vol. 14, N 2. P. 30-36.
10. Geyer J.W., Dabich D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates // *Anal. Biochem.* 1971. Vol. 39, N 2. P. 412–417.
11. Lerzynski G., Suschek C.V., Kolb-Bachoten V. In hepatocytes the regulation of NOS-2 activity at physiological L-arginine levels suggests a close link to the urea cycle // *Nitric Oxide*. 2006. Vol. 14, N 4. P. 300-308.
12. Scibior D., Czczot H. Arginine – metabolism and functions in the human organism // *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2004. Vol. 58. P. 321-332.